

今回の報告

試験表題 [14C]P092・マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験
試験番号 B140810
試験目的 代謝プロファイルを評価するため、サル試料を用いて前処理法及びラジオHPLC条件を検討する。

今回の報告内容: HPLC分析結果

試験表題 [14C]P092・マレイン酸塩のIn Vitro代謝予備試験
試験番号 B141137
試験目的 ラット、サル及びヒト肝ミクロソームにおける代謝プロファイルを予備的に検討する。

今回の報告内容: HPLC分析結果

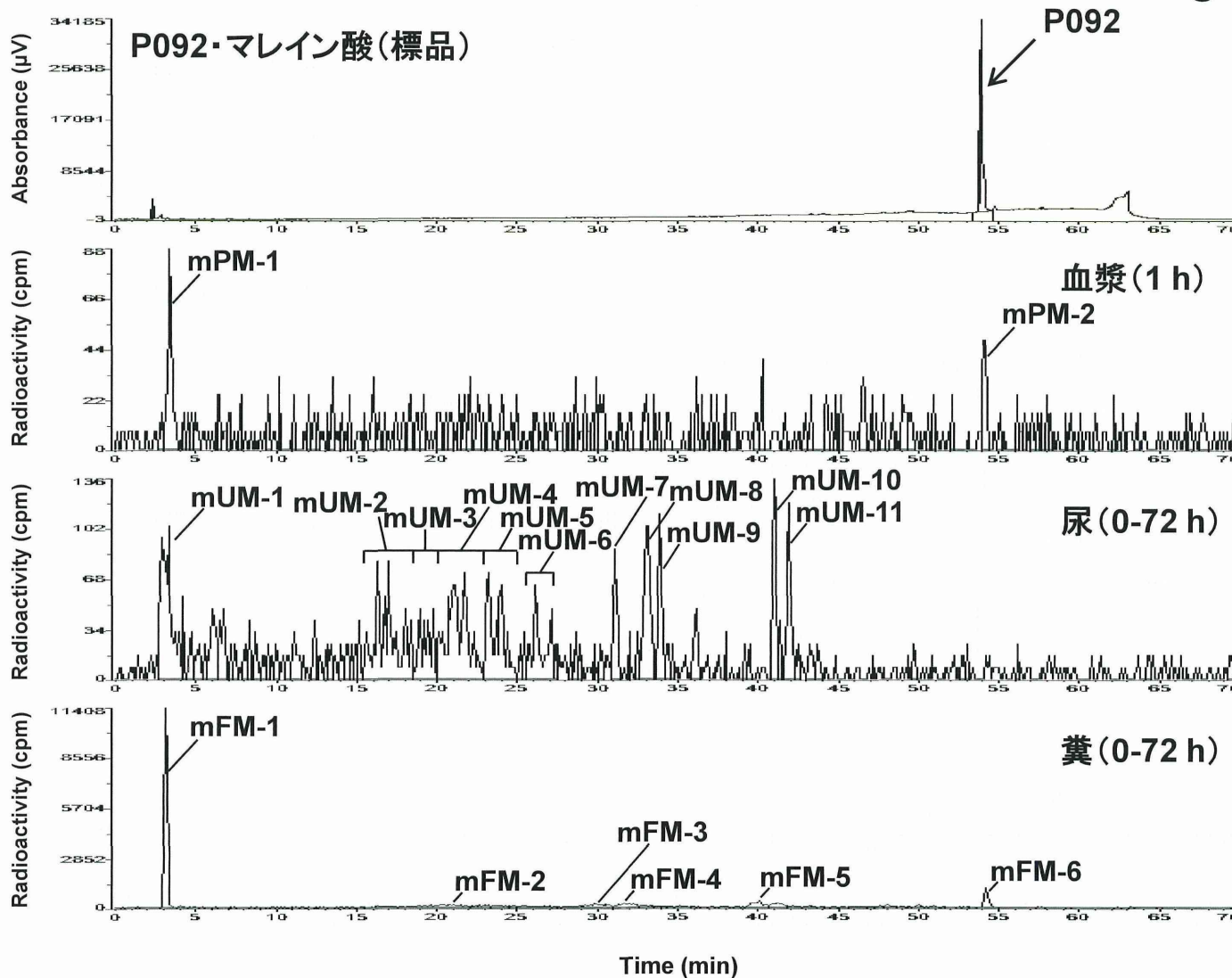
試験表題 [14C]P092・マレイン酸塩のサル単回静脈内投与時の血中濃度、排泄及び分布
試験番号 B130899
試験目的 雄性カニクイザルに単回静脈内投与して、放射能の血液及び血漿中濃度推移、尿及び糞中排泄並びに組織中濃度を検討する。

今回の報告内容: 血液・血漿中濃度推移、尿・糞中排泄及び組織中濃度

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験

ラジオHPLC測定結果(ラジオクロマトグラム)

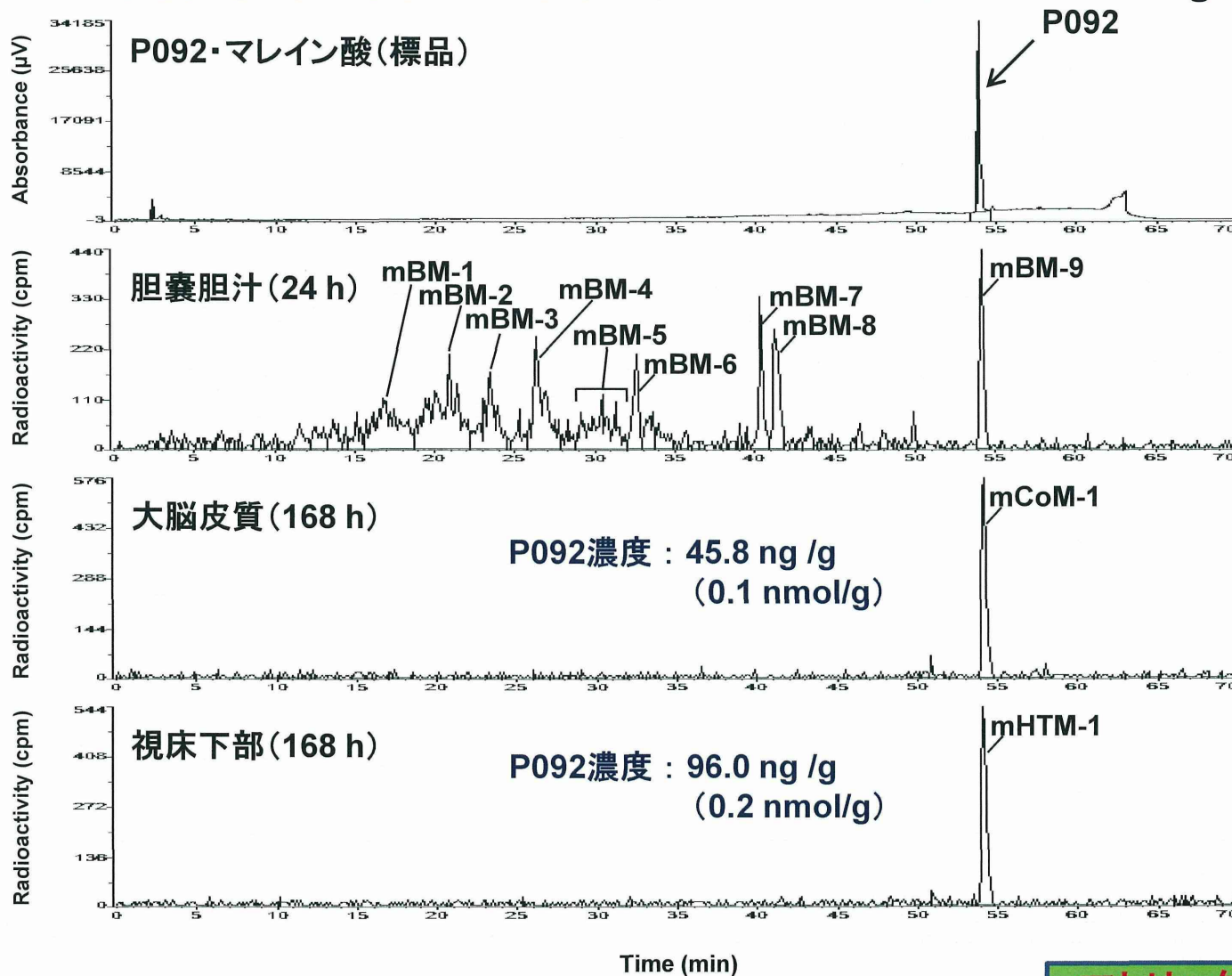
サンプル採取: サル1 mg/kg iv



[¹⁴C]P092・マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験

ラジオHPLC測定結果(ラジオクロマトグラム)

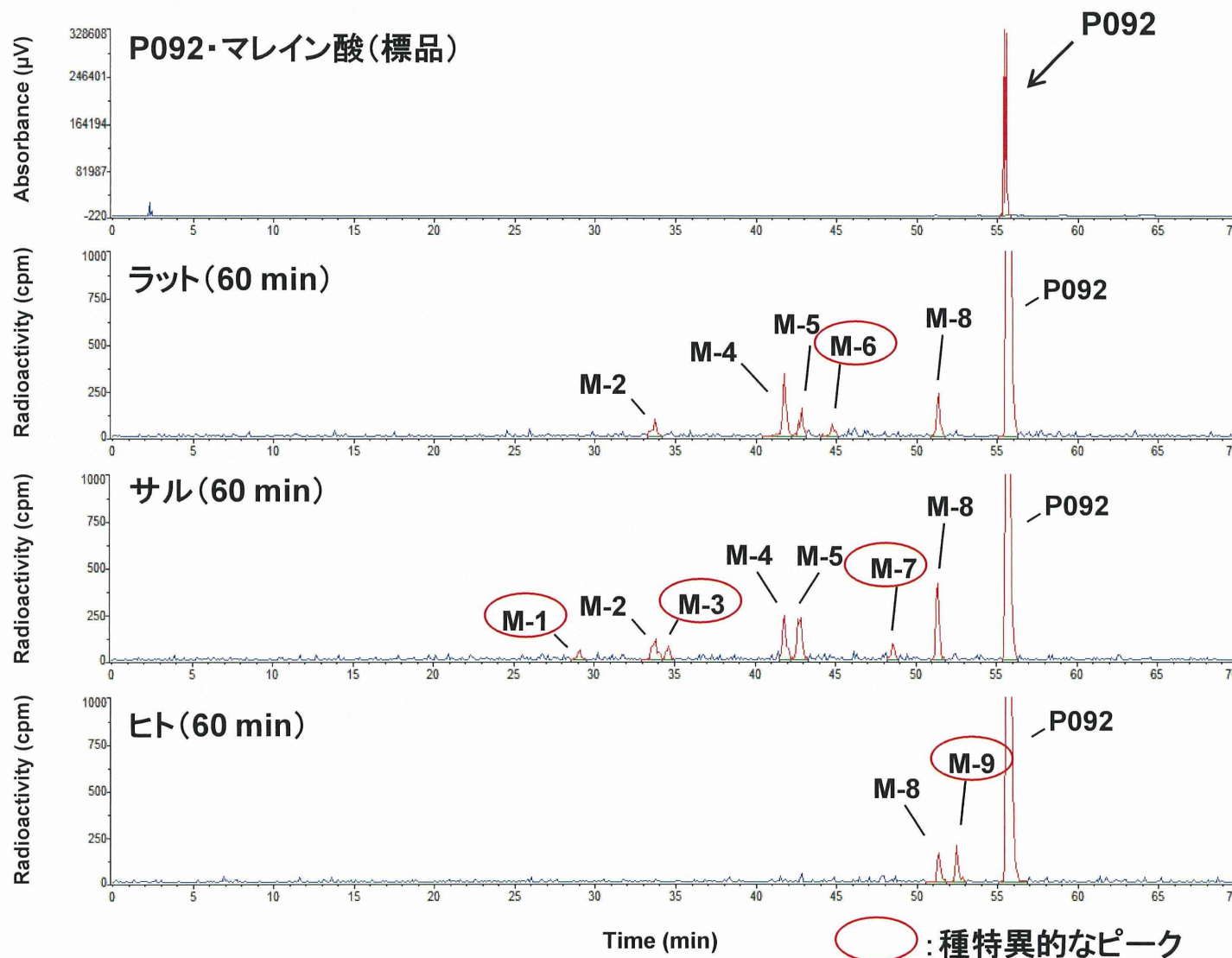
サンプル採取: サル1 mg/kg iv



マトリックス間比較

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩のIn Vitro代謝予備試験

ラジオHPLC測定結果(ラジオクロマトグラム)



[¹⁴C]P092・マレイン酸塩のIn Vitro代謝予備試験

<まとめ>

★肝ミクロソームの代謝プロファイルには種差が認められた。

全部で9種の代謝物ピーク(M-1～M-9)が検出された。

ラット:5種(M-2, M-4～M-6, M-8), 主要ピーク:M-4及びM-8

サル:7種(M-1～M-5, M-7, M-8), 主要ピーク:M-8, M-5及びM-4

ヒト:2種(M-8, M-9)

<種特異的なピーク>

ラットで1種(M-6), サルで3種(M-1, M-3, M-7), ヒトで1種(M-9)

★P092のピーク面積百分率(% Peaks, 60分)

ラットが81.8%, サルが71.8%, ヒトが93.9%であり, P092の代謝速度はサル, ラット, ヒトの順であった。

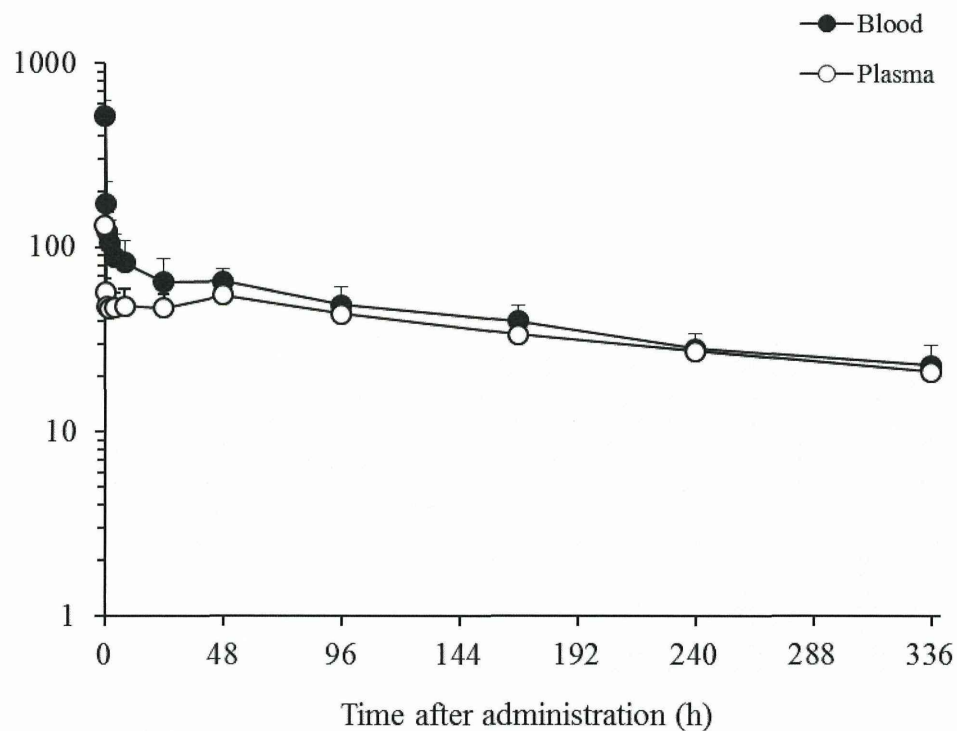
ヒト特異的代謝物の存在を示唆

今後, 必要と考えられる検討

- ・代謝物の構造解析
- ・肝細胞での代謝の検討(Iv vivoで抱合体代謝物が検出された場合)

サル血液及び血漿中放射能濃度推移, 排泄

1 mg/kg iv



血中濃度推移, 排泄は緩徐

主排泄経路: 糞中排泄

336hでの組織中放射能残存率:
投与量の25%

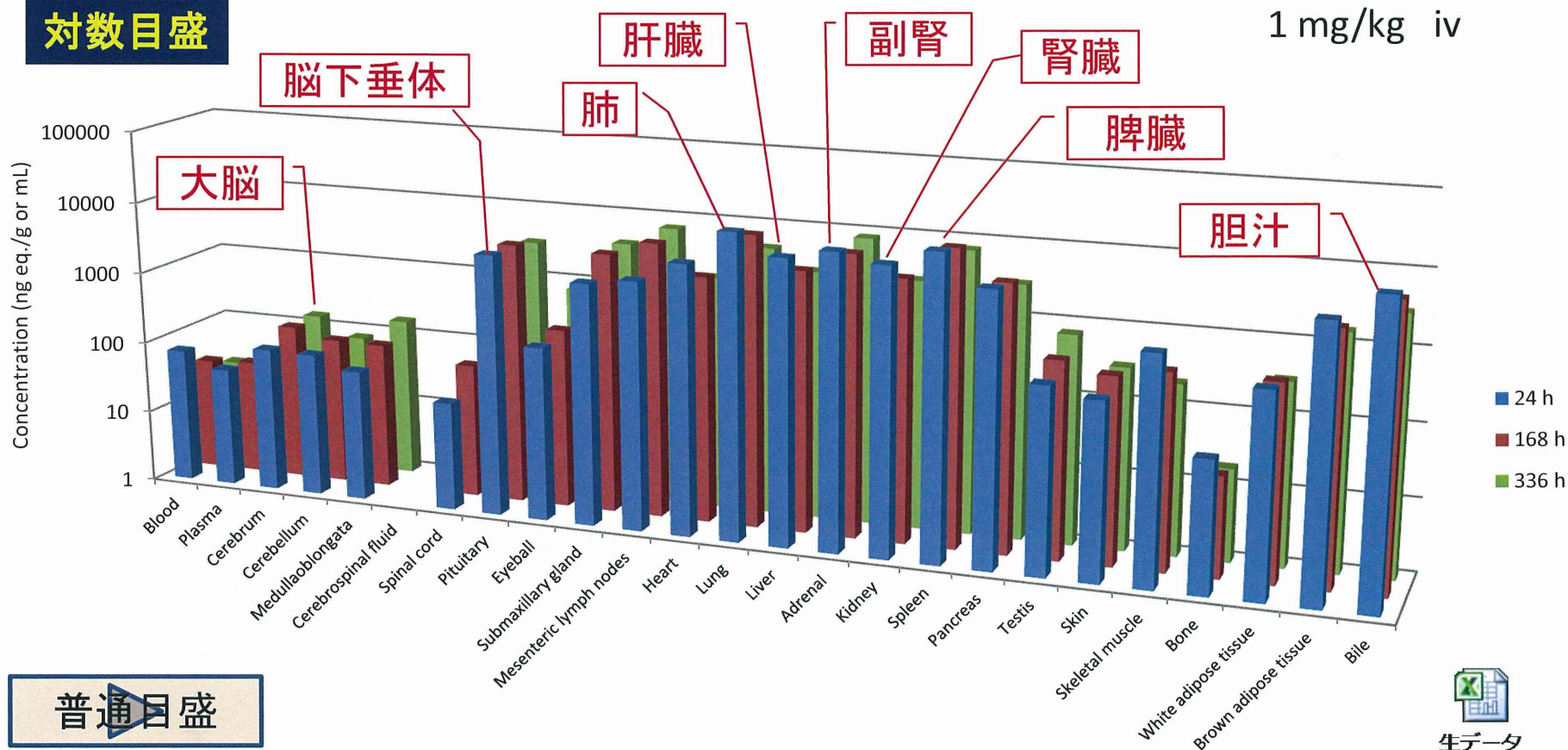
Time (h)	Cumulative radioactivity excretion (% of dose)			
	Urine	Feces	Cage washing	Total
0-24	1.7 ± 0.4	0.6 ± 0.7	0.4 ± 0.1	2.6 ± 1.0
-336	17.2 ± 0.7	44.6 ± 6.0	2.8 ± 1.1	64.6 ± 5.4

Data are expressed as the mean ± SD of three animals.

サル組織中放射能濃度(24, 168, 336h)

対数目盛

1 mg/kg iv



普通目盛

<最高値>

小脳, 脊髄及び皮膚: 投与後168時間

大脳, 延髄, 眼球, 顎下腺, 腸間膜リンパ及び精巣: 投与後336時間

その他の組織: 投与後24時間

脳脊髄液: いずれの測定時点においてND

大脳中放射能濃度: 148.8 ng eq./g

各試験の進捗, 今後の予定

- ★代謝物組成分析予備試験(報告書作成中)
- ★ In vitro代謝予備試験(報告書作成中)
- ★サル単回投与ADME本試験(報告書作成中)
血中濃度, 体内分布, 排泄
- ★ラット単回投与ADME本試験(実験中)
血中濃度, 体内分布, 排泄
- ★サル反復投与ADME予備試験(実験中)
週1回, 4週間投与
血中濃度, 体内分布, 代謝物組成検討(血液又は血漿, 大脳)
- ★マウス腹腔内投与ADME予備試験(2/16開始)
血液, 血漿及び脳中放射能濃度(投与後1, 24, 168, 336時間)
- ★ラット, サル及びマウス代謝物分析(4月以降)
上記の動物試験の試料中代謝物分析

参考資料

<進捗報告>

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験(試験番号B140810)

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩のIn Vitro代謝予備試験(試験番号B141137)

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩をカニクイザルに単回静脈内投与したときの放射能の血中濃度, 排泄及び分布(試験番号B130899)

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験(試験番号B140810)

試験目的 [¹⁴C]P092・マレイン酸塩の代謝プロファイルを評価するため、サルに単回静脈内投与したときの試料を用いて前処理法及びラジオHPLC条件を検討する。

進捗報告の内容

- 下記分析試料の定量結果
 - ・サル血漿(投与後1時間)
 - ・サル尿(投与後0-72時間)
 - ・サル糞(投与後0-72時間)
 - ・サル胆嚢胆汁(投与後24時間)
 - ・サル大脳皮質(投与後168時間)
 - ・サル視床下部(投与後168時間)

前処理回収率及びカラム回収率

B140810

サル分析試料	放射能の回収率(%)			
	抽出液	抽出残渣	HPLC試料	HPLCカラム*
血漿(1 h)	75.2	N.A.	68.8	101.4
尿(0-72 h)	96.4	N.A.	95.9	97.0
糞(0-72 h)	90.5	N.A.	76.3	96.1
胆嚢胆汁(24 h)	--	--	92.4	102.0
大脳皮質(168 h)	75.7	N.A.	56.0	96.0
視床下部(168 h)	74.3	30.6	56.4	96.5

-- 該当なし

N.A. 測定せず

* HPLCカラムからの放射能の回収率

ラジオHPLC測定

B140810

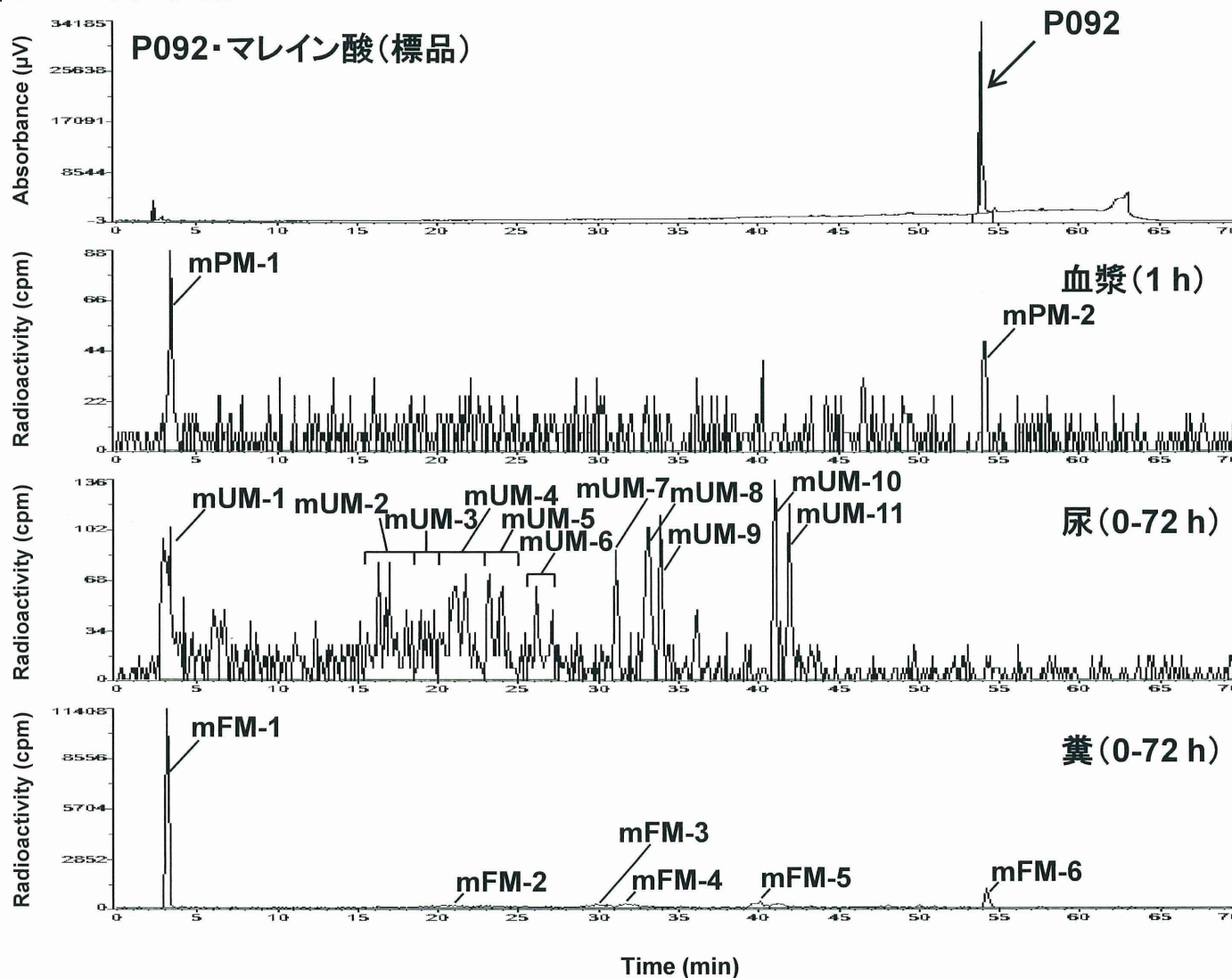
ラジオHPLC条件 (B140810-27)

ラジオHPLCシステム	Prominence (LC-20A) システム, Radiomatic 625TR																
カラム	XBridge BEH C18 Column, 130Å, 5 μm, 4.6 mm × 250 mm (Waters)																
カラム温度	40°C																
オートサンプラー温度	4°C																
移動相	A: 10 mmol/L 炭酸水素アンモニウム水溶液 B: アセトニトリル																
グラジエントプログラム	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (min)</th> <th>0.0</th> <th>5.0</th> <th>35.0</th> <th>55.0</th> <th>60.0</th> <th>60.1</th> <th>70.0</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>B%</td> <td>15.0</td> <td>15.0</td> <td>40.0</td> <td>90.0</td> <td>90.0</td> <td>15.0</td> <td>15.0</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (min)	0.0	5.0	35.0	55.0	60.0	60.1	70.0	B%	15.0	15.0	40.0	90.0	90.0	15.0	15.0
時間 (min)	0.0	5.0	35.0	55.0	60.0	60.1	70.0										
B%	15.0	15.0	40.0	90.0	90.0	15.0	15.0										
流速	1.0 mL/min																
検出 (UV)	254 nm																
検出 (放射能)	放射能検出器の設定 Liquid scintillation system: Radiomatic 625TR セル容量: 0.5 mL シンチレーションカクテル: Ultima-Flo M (流速: 3 mL/min)																
分析時間	70 min																

ラジオHPLC測定結果(ラジオクロマトグラム)

B140810

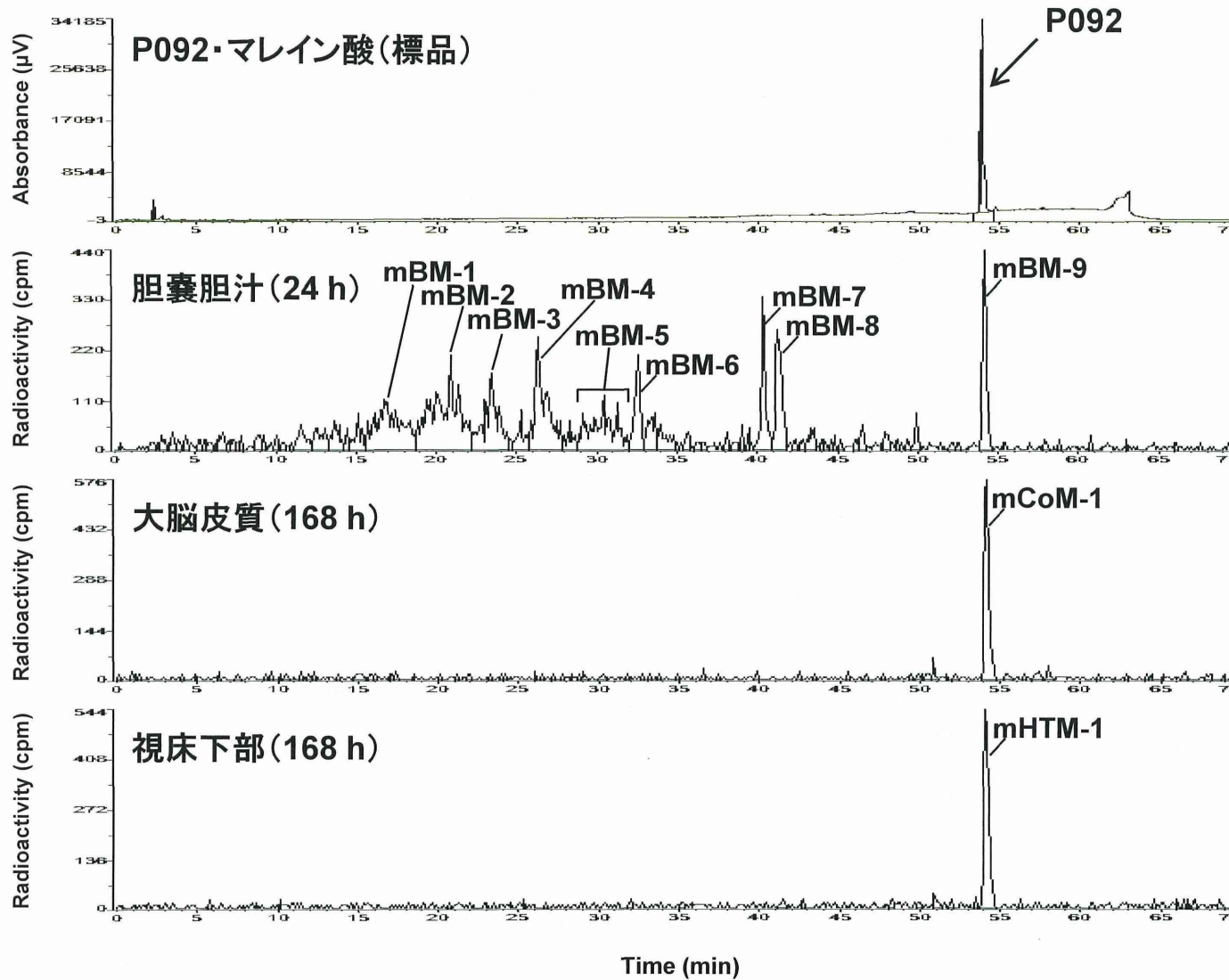
分析条件: B140810-27



ラジオHPLC測定結果(ラジオクロマトグラム)

B140810

分析条件: B140810-27



定量結果(血漿 1 h)

B140810

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (ng eq./mL)	
			1 h	
			7.8	
	mPM-1	Unknown	[5.4]	(4.9)
			3.7	
	mPM-2	P092	[2.5]	(2.3)
			88.5	
Plasma	Others	--	[60.9]	(54.9)
			--	
	Unextracted	--	[31.2]	(28.1)
			68.8	
	Recovery (%)		68.8	
	Total radioactivity		(90.2)	



% Peaks: 面積百分率
% in analysis sample: 組成比
ng eq./mL: 血漿中濃度

定量結果(尿 0-72 h)

B140810

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (% of dose)	
			0-72 h	
			9.0	
	mUM-1	Unknown	[8.6]	(0.4)
			10.2	
	mUM-2	Unknown	[9.8]	(0.4)
			3.8	
	mUM-3	Unknown	[3.6]	(0.2)
			10.7	
	mUM-4	Unknown	[10.3]	(0.5)
			7.6	
	mUM-5	Unknown	[7.3]	(0.3)
			5.3	
	mUM-6	Unknown	[5.1]	(0.2)
			2.8	
Urine	mUM-7	Unknown	[2.7]	(0.1)
			6.0	
	mUM-8	Unknown	[5.8]	(0.3)
			3.2	
	mUM-9	Unknown	[3.1]	(0.1)
			4.9	
	mUM-10	Unknown	[4.7]	(0.2)
			4.2	
	mUM-11	Unknown	[4.0]	(0.2)
			32.3	
	Others	--	[31.0]	(1.4)
			--	
	Unextracted	--	[4.1]	(0.2)
			Recovery (%) 95.9	
			Total radioactivity (4.5)	



% Peaks: 面積百分率
% in analysis sample: 組成比
% of dose: 尿中排泄率

定量結果(糞 0-72 h)

B140810

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (% of dose)	
			0-72 h	
Feces	mFM-1	Unknown	46.5	[35.5]
			(5.5)	
	mFM-2	Unknown	6.4	[4.9]
			(0.8)	
	mFM-3	Unknown	5.6	[4.3]
			(0.7)	
	mFM-4	Unknown	4.6	[3.5]
			(0.5)	
	mFM-5	Unknown	4.9	[3.7]
			(0.6)	
mFM-6	P092	5.4	[4.1]	
		(0.6)		
Others	--	26.6	[20.3]	
		(3.1)		
Unextracted	--	--	[23.7]	
			(3.6)	
Recovery (%)			76.3	
Total radioactivity			(15.4)	



% Peaks: 面積百分率
% in analysis sample: 組成比
% of dose: 糞中排泄率

定量結果(胆嚢胆汁 24 h)

B140810

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (% of dose)	
			24 h	
			9.5	
	mBM-1	Unknown	[8.8]	(0.1)
			14.8	
	mBM-2	Unknown	[13.7]	(0.1)
			7.7	
	mBM-3	Unknown	[7.1]	(0.0)
			9.3	
	mBM-4	Unknown	[8.6]	(0.1)
			8.1	
	mBM-5	Unknown	[7.5]	(0.1)
			3.8	
Bile	mBM-6	Unknown	[3.5]	(0.0)
			5.7	
	mBM-7	Unknown	[5.3]	(0.0)
			6.2	
	mBM-8	Unknown	[5.7]	(0.0)
			5.9	
	mBM-9	P092	[5.5]	(0.0)
			29.0	
	Others	--	[26.8]	(0.2)
			--	
	Unextracted	--	[7.6]	(0.1)
			92.4	
	Recovery (%)		92.4	
	Total radioactivity		(0.68)	



% Peaks : 面積百分率
% in analysis sample : 組成比
% of dose : 胆嚢胆汁中分布率

定量結果 (大脳皮質 168 h)

B140810

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (ng eq./g)	
			168 h	
Cerebral cortex	mCo-1	P092	49.3	
			[27.6]	P092濃度 : 0.1 nmol/g
	(45.8)	50.7		
	Others	--	[28.4]	
			(47.1)	
	Unextracted	--	--	
[44.0]				
		(73.0)		
		Recovery (%)	56.0	
		Total radioactivity	(166.0)	



% Peaks: 面積百分率
% in analysis sample: 組成比
ng eq./g: 大脳皮質中放射能濃度

定量結果(視床下部 168 h)

B140810

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] ($\mu\text{g eq./mL or g}$)	
			168 h	
Hypothalamus	mHT-1	P092	[38.9]	P092濃度 : 0.2 nmol/g
			(96.0)	
	Others	--	[17.5]	
			(43.2)	
	Unextracted	--	[43.6]	
			(107.6)	
	Recovery (%)		56.4	
	Total radioactivity		(246.8)	

% Peaks: 面積百分率
% in analysis sample: 組成比
ng eq./g: 視床下部中放射能濃度